

Kathleen Yasmin de Almeida

**DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA GENOTÍPICA E  
ALÉLICA DO POLIMORFISMO *ACTN3 R577X* EM  
JOGADORES DE FUTEBOL DE ELITE DO PARANÁ**

Trabalho de Conclusão de Curso  
apresentado como requisito para  
cumprimento da disciplina TCC II  
(BIO7016) do currículo do Curso de  
Graduação em Ciências Biológicas da  
Universidade Federal de Santa  
Catarina.

Orientador: Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andrea Rita  
Marrero

Florianópolis  
2018

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor  
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária  
da UFSC.

A ficha de identificação é elaborada pelo próprio autor

Maiores informações em:

<http://portalbu.ufsc.br/ficha>

Kathleen Yasmin de Almeida

**DETERMINAÇÃO DA FREQUÊNCIA GENOTÍPICA E  
ALÉLICA DO POLIMORFISMO ACTN3 R577X EM  
JOGADORES DE FUTEBOL DE ELITE DO PARANÁ**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “Bacharel em Ciências Biológicas”, e aprovado em sua forma final pelo Curso de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 23 de Novembro de 2018.

---

Prof. Dr. Carlos Roberto Zanetti  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Andrea Rita Marrero  
Orientadora

---

Prof.<sup>a</sup> Dr.<sup>a</sup> Norma Machado da Silva

---

M.e Tiago Cetolin



Mãe e irmã: vocês são minhas grandes  
razões.



## AGRADECIMENTOS

UFSC: você foi a minha segunda (às vezes até primeira!) casa durante esses últimos 5 anos, tenho orgulho de poder dizer que concluí essa etapa tão importante em um local tão incrível e prestigiado. Obrigada por tudo!

Agradeço ao Figueirense Futebol Clube e ao Paraná Futebol Clube, pelo apoio financeiro e incentivo à pesquisa.

Tiago Cetolin, muito obrigada por tudo, nossa pesquisa vai chegar muito longe ainda! Tenho certeza do conhecimento e futuro promissor que conseguimos e conseguiremos com os resultados desses últimos anos. Gratidão pelo apoio, pela confiança e por ajudar a orquestrar tudo isso mesmo à distância.

Colegas do LAPOGE: Leandra, Mari e Clisten... muito obrigada pelos ensinamentos, pela ajuda em tudo e por toda a paciência sempre! Lucas: obrigada por ser meu companheiro nesse projeto, foi ótimo te conhecer melhor, tenho certeza que você tem um caminho lindo pela frente! Sophia, Iara, Pri e os demais colegas queridos, muito obrigada pela companhia! Professora Yara Muniz, gratidão imensa eu sinto por toda a ajuda que você me deu!

Minha orientadora e professora, Andrea, muito obrigada por acolher aquela menina que sempre foi apaixonada pela área e pediu um espacinho no laboratório quando criou a coragem de mudar os caminhos e trilhar por onde acreditava ser o melhor. Você me recebeu de braços abertos e com tanto entusiasmo... minhas palavras jamais serão suficientes pra expressar minha gratidão por teus ensinamentos. Não só dentro de laboratório quanto fora, como pessoa e educadora.

Falando em professoras que tanto me ensinaram, jamais deixaria de agradecer a vocês: Cilene Lino de Oliveira e Daniela de Toni, minhas primeiras orientadoras durante essa caminhada da Biologia. O Projeto Fly vai morar no meu coração pra sempre, vocês me ensinaram demais e esses aprendizados sempre estiveram e estarão comigo. Obrigada, mil vezes!

Agradeço ao PET Biologia, onde fui bolsista por tantos anos! Entrei no programa como uma caloura que estava descobrindo tudo... aprendi e cresci imensamente com vocês, e cada renovação do grupo me ensinou muito. Então agradeço aos veteranos da época que entrei e ao novo grupo que me tem como a mais antiga petiana. Vou deixar o PET nas mãos de vocês sem medo algum, porque esse programa vai continuar um sucesso, vocês são incríveis! Jamais esqueçam da diferença que fazemos na graduação! E ao Renato (tutor querido, mais conhecido como

tutu-barão): obrigada pelo apoio e parabéns por ser esse verdadeiro facilitador e educador nessa nossa caminhada profissional.

Turma 14.1: que maravilhoso foi conhecer e conviver com cada um de vocês! Agradeço muito pela companhia durante esses anos! Fiz amigos incríveis nessa jornada: Andressa, Bruno Hech e, principalmente: Duda, Math e Bruno Tavares... presentes lindos da minha vida! São minhas amizades mais especiais dentro da graduação, muito obrigada por todas as risadas, os momentos de desabafo, pelas viagens incríveis e cada pequeno momento que vivemos, cada cafezinho ou jogo de bocha (triangulação!) foi especial pra mim, muito obrigada, meus parceiros, amo vocês! Ainda vamos rodar esse mundo juntos.

João Victor, meu querido namorado... já foram tantos anos juntos, tantas fases e momentos de crescimento... como eu poderia deixar de te agradecer, quando você é um dos meus maiores apoiadores? Obrigada, meu amor, por estar comigo em cada momento, teu apoio é e sempre foi essencial. Que continuemos trilhando nosso caminho juntos. E independentemente do que nosso futuro reservar, tenho certeza do homem incrível que você sempre será! Obrigada por estar comigo em todas as minhas fases. Te amo!

Karina, eu tinha que te incluir aqui! Nossa amizade permitiu tanto apoio, mesmo que, na maior parte do tempo, cada uma estava em um extremo do planeta. Suas palavras sempre foram suporte, você foi essencial para que eu chegasse aqui. Sou sua maior torcedora, amo você.

E, por fim, o agradecimento que mais me deixa com os olhos marejados, o mais importante pra mim: mãe e irmã querida, vocês são meu tudo! Muito obrigada, porque vocês são minha força. Mãe: você sempre se sacrificou muito por nós, és a maior guerreira que conheço, e esse é apenas um pequeno gesto de retribuição. Sem vocês eu não seria nada, me faltam palavras para tanta gratidão guardada. Nossas palhaçadas só a gente sabe, nossas lutas também. Amo vocês mais do que tudo.



먼 훗날에 넌 지금의

넌 절대로 잊지 마

Mesmo em um futuro distante, nunca esqueça o  
você de agora.

(방탄소년단, “Tomorrow”, 2014)



## RESUMO

*ACTN3 R577X* é um polimorfismo que nos últimos anos vem sendo fortemente relacionado com performance esportiva. Estudos demonstram a grande frequência do alelo R em jogadores que necessitam de explosão e potência muscular, enquanto o alelo X se mostra mais expressivo em atletas de resistência muscular. No presente estudo pretendeu-se verificar a frequência dos alelos e genótipos de jogadores profissionais de futebol atuantes no estado do Paraná e, tendo esses dados, entender sua relação com indivíduos controle não jogadores. Para isso, foram genotipados 20 atletas profissionais do Paraná, através de PCR e Reação com Enzima de Restrição. Os resultados obtidos da genotipagem de *ACTN3* desses jogadores foram comparados com indivíduos não jogadores do Brasil, e dados da literatura de indivíduos jogadores e não jogadores de alguns países de diferentes continentes. Dados sobre a naturalidade dos jogadores do Paraná também foram recolhidos. Viu-se que a frequência alélica de R em jogadores é muito maior do que X (72.5% e 27.5%, respectivamente), e essa diferença é ainda mais expressiva se comparada com a de indivíduos não jogadores (37% para R e 63% para X). Além disso, a frequência genotípica de RR e RX (52.6% e 39.8%, respectivamente) é maior em jogadores do que indivíduos não jogadores (13.7% e 46.6%). Esses resultados obtidos se assemelham muito aos que foram obtidos em países da África, e se distanciam de países europeus, relação que foi entendida quando a história de colonização do Brasil e dos estados que os jogadores desta pesquisa pertencem foi resgatada. O Brasil como um todo, bem como os estados de origem com maior representatividade de jogadores aqui analisados, recebeu imigração de populações africanas em diversos momentos da história, o que pode ter feito com que o grupo de jogadores tivesse tanta similaridade com atletas africanos. Além disso, esses dados também podem dar mais sustento às teorias de que os imigrantes europeus que vieram para, principalmente, o sul do Brasil, já trouxeram seus próprios índices de miscigenação com povos africanos.

**Palavras-chave:** Desempenho esportivo. Força muscular. Polimorfismo.



## ABSTRACT

*ACTN3* R577X is a polymorphism that in recent years has been strongly related to sporting performance. Studies show a high frequency of the R allele in athletes with explosive and muscular power, while the X allele is most expressive in muscle strength athletes. The present study was intended to verify the frequency of alleles and genotypes on soccer players in the state of Paraná and related this data with non players control. To that, were genotyped 20 professional soccer players from Paraná, through PCR and Reaction with Restriction Enzyme. The results obtained from the *ACTN3* survey of players were compared to the non-players Brazilian population, and literature data from athletes and non-athletes from different continents. Data on the naturalness of the players of Paraná were also collected. It has been seen that the frequency of R allele of players is also much bigger to that X (72.5% and 27.5%, respectively), and that the differentiation is still more expressive when compared to non-player (37% to R allele and 63% to X allele). In addition, the genotype frequency of RR and RX (52.6% and 39.8%, respectively) is much higher in players than non-player individuals (13.7% and 46.6%). The results obtained are very similar to those found in African countries, and distant from European countries. This can be explained from the history of colonization of Brazil and the states of origin of the players analyzed in this study. Brazil as a whole, as well as the states of origin with the highest representation of players analyzed here, have received immigration from African populations at various times in history, which may have made the players group have higher similarity with African athletes. Moreover, these data may also give more support to the theories that European immigrants who came mainly to southern Brazil have already brought their own rates of miscegenation with African people.

**Keywords:** Sporting performance. Muscular strength. Polymorphism.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Ancoragem dos filamentos de actina na linha Z pela alfa-actinina (em azul, indicado por círculo vermelho). Nas imagens são mostradas também outras proteínas da linha Z: ZASP e T-Cap. Além disso, percebe-se a disposição da actina e miosina na Banda A..... 28

Figura 2: Esquema da restrição da enzima DdeI. .... 36

Figura 3: Gel de agarose, demonstrando os tipos de bandas possíveis. Indivíduos com genótipo 577R/R apresentam fragmentos na altura de 205 e 86 pb; genótipo 577R/X, 205, 108, 97 e 86 pb; e genótipo 577X/X 108, 97 e 86 pares de bases. .... 36

## **LISTA DE QUADROS**

Quadro 1: Sequência de iniciadores utilizados na reação de PCR para o polimorfismo do gene ACTN3.....	35
---	----



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1: Frequências genotípicas e alélicas em valores absolutos e relativos (%) observadas para o *locus ACTN3* em Jogadores profissionais e indivíduos Controle sedentários do Brasil..... 37

Tabela 2: Dados sobre frequências genotípicas e alélicas (em porcentagem) referentes a atletas de diferentes modalidades e indivíduos controle de distintos países..... 39

Tabela 3: Estados de origem dos jogadores amostrados neste estudo. .... 40



## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CBF – Confederação Brasileira de Futebol  
CCB – Centro de Ciências Biológicas  
DNA – Ácido Desoxirribonucleico (em inglês, *Deoxyrribonucleic Acid*)  
EDTA – Ácido Etilenodiamino tetra-acético (em inglês, *Ethylenediamine tetraacetic acid*)  
FIFA – Federação Internacional de Futebol  
IBGE – Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística  
Pb – Pares de base  
PBS – Tampão fosfato-salino (em inglês, *Phosphate buffered saline*)  
PCR – Reação em Cadeia da Polimerase  
Rpm – Rotações por minuto  
SDS – Dodecil sulfato de sódio (em inglês, *sodium dodecyl sulfate*)  
TCLE – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido  
Tris – Trisaminometano  
UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina



## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>27</b>
1.1	SOBRE O FUTEBOL .....	27
1.2	ACTINAS .....	28
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS.....</b>	<b>30</b>
2.1	OBJETIVO GERAL .....	30
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	30
<b>3</b>	<b>MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>33</b>
3.1	DESCRIÇÃO DA AMOSTRA .....	33
<b>3.1.1</b>	<b>Critérios éticos.....</b>	<b>33</b>
<b>3.1.2</b>	<b>Critérios de inclusão e exclusão .....</b>	<b>33</b>
3.2	COLETAS.....	33
3.3	EXTRAÇÃO DE DNA .....	34
3.4	GENOTIPAGEM.....	35
3.5	ANÁLISE ESTATÍSTICA .....	37
<b>4</b>	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>37</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÃO .....</b>	<b>45</b>
<b>6</b>	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>47</b>



# 1 INTRODUÇÃO

O futebol é um esporte mundialmente difundido, especialmente no Brasil, que se autodenomina como “o país do futebol”, é nessa pátria onde o esporte assumiu uma essência de felicidade e metonímia da representação da identidade brasileira no exterior: o povo que consegue superar os problemas com sorriso no rosto, bola na mão e samba no pé (LOVISOLO, 2001).

A performance de atletas de elite na maioria das vezes é atribuída ao treinamento e dieta adequados. No entanto, além desses fatores, o perfil genético se mostra uma maneira de se obter melhores resultados no esporte, quando esse é favorável às características da modalidade em questão (PASQUA et al., 2011).

## 1.1 SOBRE O FUTEBOL

Segundo informações da FIFA – Federação Internacional de Futebol –, através do projeto “Big Count FIFA”, foram contabilizados que, no ano de 2007, havia 265 milhões de jogadores de futebol em todo o mundo. O apanhado de dados mostrou o Brasil como a quinta Confederação com maior número de jogadores, com mais de 13 mil atletas. Dados mais atuais da CBF mostram mais de 28 mil jogadores profissionais em atividade (CBF, 2015). A popularidade do esporte cresce a cada ano e a sua audiência substancialmente acompanha esse crescimento (TUMILTY, 1993).

O futebol é um esporte que apresenta diferentes posições táticas, que possuem variadas necessidades fisiológicas e cinesiológicas, incluindo força e potência muscular (STØLEN et al., 2005). Como por exemplo os meio-campistas e laterais, que precisam de uma elevada potência aeróbica por necessitarem percorrer uma maior distância total em relação às outras posições. Por outro lado, embora os atacantes percorram uma distância total menor, sua posição tática se destaca por necessitar velocidade e potência muscular (DELLAL et al., 2011).

Durante um jogo de 90 minutos, um jogador médio cobre cerca de 8000 – 12000 metros (SANTIAGO et al., 2008), com um padrão de movimento caracterizado como: 17% do tempo total parado, 40% andando, em corrida de baixa intensidade por 35% do tempo total e corridas de alta intensidade por 8% do tempo total (neste considera-se corrida em velocidade moderada, alta velocidade e arrancada – conhecida como o nome em inglês “*sprint*”) (COELHO, 2011). É o desempenho nessa última categoria, de alta intensidade, que frequentemente vai

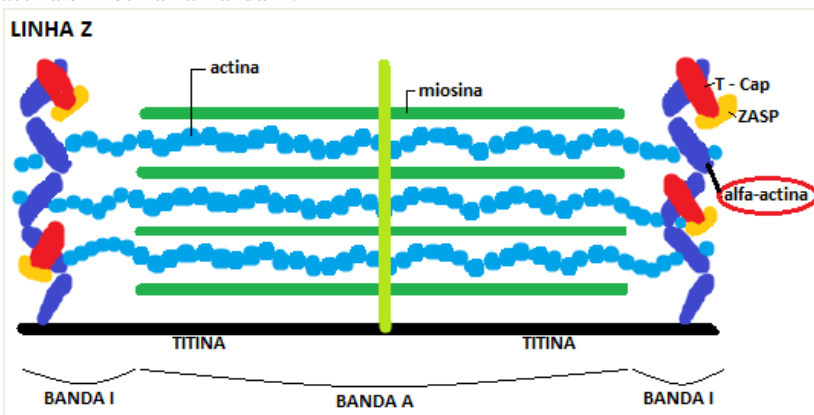
determinar o resultado do jogo (REILLY; BANGSBO; FRANKS, 2000), já que a capacidade de produzir contrações musculares mais rápidas pode ser um fator limitante de desempenho (SANTIAGO et al., 2008).

## 1.2 ACTINAS

Kathryn North foi a responsável por, em 1993, descobrir um dos principais genes relacionados com a performance esportiva. Seus estudos estavam concentrados em distrofia muscular de crianças, mas ao estudar uma família inteira, percebeu a ausência de uma proteína estrutural sarcomérica. A partir dessa descoberta, cientistas esportivos do mundo todo passaram a testar seus atletas (EPSTEIN, 2013).

As  $\alpha$ -actinas formam uma família de proteínas de ancoragem dos filamentos de actina à linha Z do sarcômero, onde se localizam (BERMAN; NORTH, 2010; MICHAEL et al., 1987), como demonstra a figura abaixo (Figura 1). É por meio da interação dos filamentos de actina e miosina, onde os filamentos finos (actina) deslizam sobre os filamentos grossos (miosina), encurtando as miofibrilas, que ocorre a contração muscular.

Figura 1: Ancoragem dos filamentos de actina na linha Z pela alfa-actinina (em azul, indicado por círculo vermelho). Nas imagens são mostradas também outras proteínas da linha Z: ZASP e T-Cap. Além disso, percebe-se a disposição da actina e miosina na Banda A.



Fonte: Autora (2018).

Existem 4 formas de  $\alpha$ -actinas no seres humanos:  $\alpha$ -actina-1,  $\alpha$ -actina-2,  $\alpha$ -actina-3 e  $\alpha$ -actina-4, sendo codificadas pelos genes *ACTN1*,



2, 3 e 4, respectivamente. Essas proteínas são divididas em duas categorias: as formas não musculares –  $\alpha$ -actina-1 e 4, e as formas miofibrilares muito conservadas pela evolução humana –  $\alpha$ -actina-2 e 3 (BEGGS, 1992; BURRIDGE; FERAMICO, 1981; PASQUA et al., 2011), onde a  $\alpha$ -actina-3 se mostra uma variante mais específica para fibras musculares de contração rápida (BURRIDGE; FERAMICO, 1981; NORTH et al., 1999).

Um polimorfismo para *ACTN3*, gene que codifica a  $\alpha$ -actina-3, foi identificado em seres humanos e se apresenta muito comum na população: chamado de *r577x*, é resultado de uma mutação onde a citosina é substituída por uma timina (na posição 1747 no éxon 16), resultando num *stop códon* no lugar do aminoácido arginina (BERMAN; NORTH, 2010; NORTH et al., 1999). Sendo assim, esse polimorfismo faz com que se tenha uma forma truncada e não-funcional de  $\alpha$ -actina-3.

Aqueles que possuem ambos os alelos mutados (genótipo XX) apresentam ausência total de  $\alpha$ -actina-3 funcional. Esses indivíduos não possuem nenhuma modificação funcional ou fenotípica aparente e estudos sugerem que exista um ganho de função de *ACTN2*. Indivíduos heterozigotos para o polimorfismo (genótipo RX) apresentam uma redução na quantidade de  $\alpha$ -actina-3 (PASQUA et al., 2011).

Yang et al. (2003) foram os primeiros a demonstrar a distribuição do alelo X desse polimorfismo em atletas de elite<sup>1</sup>. No estudo, corredores de arrancada foram genotipados e percebeu-se que o alelo X foi encontrado apenas em 8% dos corredores masculinos e em nenhuma das corredoras do sexo feminino (em um n= 173), enquanto nos indivíduos controle (homens e mulheres sedentários), encontrou-se o alelo X em 16% dos homens e 20% das mulheres. Sabe-se que esses atletas precisam de muita explosão muscular para que consigam realizar grandes acelerações e atingir altas velocidades, sendo assim, a estrutura e função das fibras musculares tipo II são de extrema importância para o desempenho esportivo (YANG et al., 2003).

Corroborando estudos de Yang et al. (2003), Druzhevskaya et al. (2008) analisaram o mesmo polimorfismo em atletas russos de diferentes modalidades onde a força e potência muscular predominam, sendo comparados com indivíduos não-atletas. As frequências do alelo X e genótipo XX foram maiores nos indivíduos não atletas (38.7% e 14.2%, respectivamente) quando comparados com atletas (33,3% e 6,4%).

---

<sup>1</sup> São considerados atletas de elite aqueles que já participaram de campeonatos mundiais e Jogos Olímpicos.

No entanto, Scott et al. (2010) não observaram diferenças nas frequências entre velocistas e não-atletas. Nesse estudo foram encontradas baixas incidências do genótipo XX em ambos os grupos, e nas diferentes nacionalidades estudadas: jamaicanos (velocistas: 3% e controle: 2%) e norte-americanos (velocistas: 2% e controle: 4%). Nesse estudo concluiu-se que a etnia da população estudada pode ter influência, já que os próprios resultados obtidos nos grupos foram muito abaixo da média geral de 18%.

No geral, o que se observa em diversos estudos sobre *ACTN3* é que a frequência maior do alelo R em atletas de *sprint* quando comparados a indivíduos controle sugere que a presença da  $\alpha$ -actina-3 faz com que se tenha uma maior geração de força e potência musculares (YANG et al., 2003). Sendo assim, sujeitos *ACTN3*-RR e *ACTN3*-RX (que expressam a proteína funcional) possuem características de força e velocidade (MACARTHUR et al., 2008; MACARTHUR; NORTH, 2004, 2007), enquanto que aqueles que possuem a forma truncada (*ACTN3* -XX) possuem maior aptidão para modalidades onde é exigida resistência (AHMETOV et al., 2008).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 OBJETIVO GERAL

Determinar a frequência genotípica de *ACTN3* em jogadores profissionais de futebol atuantes no Paraná e de não jogadores profissionais (controle) para verificar se há diferença nas frequências das variantes alélicas deste gene, que podem indicar influência no desempenho físico nas diferentes posições táticas de jogares de futebol, de acordo com suas funções e características musculares.

### 2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Verificar se entre os jogadores de clubes de futebol paranaenses há uma maior frequência dos genótipos que conferem a presença da proteína  $\alpha$ -actinina-3, comparado a indivíduos não jogadores do Brasil.

Determinar as frequências alélicas em jogadores de futebol do Paraná e comparar com indivíduos não jogadores do Brasil.

Comparar as frequências alélicas e genotípicas de jogadores de futebol do Paraná com jogadores de outros países.

Comparar as frequências alélicas e genotípicas de jogadores de futebol do Paraná com indivíduos controle de outros países.



### **3 MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 DESCRIÇÃO DA AMOSTRA**

Os participantes formaram um grupo composto por 20 atletas pertencentes a clubes profissionais de futebol do Estado do Paraná integrantes das 1º a 2º divisões do Campeonato Brasileiro de Futebol.

Os participantes do grupo chamado de “Controle” foram utilizados da literatura, de Coelho (2011). São referentes a um grupo de 100 homens sedentários, com características de idade similar aos jogadores e com região político-geográfica do Brasil desconhecida.

##### **3.1.1 Critérios éticos**

O estudo foi avaliado pelo Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina. A participação foi condicionada à (i) participação voluntária de indivíduos não aparentados, e (ii) assinatura do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido – TCLE pelos sujeitos da pesquisa. A pesquisa foi conduzida de acordo com a resolução 466/2012 do Conselho Nacional de Saúde.

##### **3.1.2 Critérios de inclusão e exclusão**

São critérios de inclusão para o grupo de atletas:

- Homens com idade entre 17 e 40 anos;
- Atletas pertencentes a clubes profissionais de futebol do Estado do Paraná integrantes das 1º a 2º divisões do Campeonato Brasileiro de Futebol;
- Mínimo de 2 anos ininterruptos de prática esportiva antes do começo do estudo.

Os critérios de exclusão para o grupo de atletas foram:

- Não preenchimento dos critérios de inclusão e;
- Lesão óssea e/ou muscular nos três meses anteriores ao início da pesquisa.

#### **3.2 COLETAS**

No início da temporada, definido como o período anual de treinamento de uma equipe de futebol (SANTOS; COLEDAM; DOS-SANTOS, 2009), os atletas foram submetidos a uma coleta de 3 amostras sanguíneas de 4 ml cada, no mesmo dia. Estas coletas realizam-se por

auxiliares de enfermagem habilitados do Corpo Técnico dos Clubes de Futebol estudados. O sangue foi coletado em tubos BD Vacutainer® contendo o anticoagulante EDTA e transportado até o Laboratório de Polimorfismos Genéticos (CCB - UFSC), onde foi transferido para um tubo contendo Histopaque®-1077 ( $d = 1,077$ , Sigma Aldrich) e centrifugado a  $700 \times g$  por 30 minutos, obtendo-se o plasma e a camada de leucócitos. Após a coleta do plasma, a camada de leucócitos foi transferida para outro tubo e lavada com tampão PBS estéril pH 7,4 por centrifugação a  $250 \times g$  durante 10 minutos. As células foram ressuspendidas em 1 mL de PBS e distribuídas em 5 tubos tipo eppendorf. Os tubos eppendorf foram novamente centrifugados e o *pellet* armazenado em solução de água MiliQ. As amostras foram armazenadas em um Freezer  $-80^\circ\text{C}$  na sala fria do CCB/Departamento Bioquímica da Universidade Federal de Santa Catarina.

### 3.3 EXTRAÇÃO DE DNA

A extração foi feita conforme o seguinte protocolo: 100 $\mu\text{L}$  da camada leucocitária obtida foi ressuspendida em Solução de Lise I (0,1M Tris-HCl, 0,32M Sacarose, 0,0025M  $\text{MgCl}_2$ , 10 ml Triton X 100 1%, pH 7,6) e centrifugada a 12000 rpm durante 5 minutos, descartando-se o sobrenadante logo após. O passo foi repetido até o precipitado ficar claro (cerca de 3 vezes). Em seguida, foram adicionados 300 $\mu\text{L}$  de Solução de Lise II (0,1M Tris-HCL, 0,05M KCl, NONIDET p-40 1% - Stigma 500 ml – Twen 20 1% - VETEC 1L, pH 8,5), 10 $\mu\text{L}$  de SDS 10% e 75  $\mu\text{L}$  de Perclorato de Sódio 5M e agitado no agitador vórtex (CE – KMC) por 10 segundos para que se quebrasse o *pellet*. Depois foi adicionado 130  $\mu\text{L}$  de NaCl 6m saturado, agitado no vórtex novamente por 10 segundos e centrifugado por 10 minutos em 12000 rpm. O sobrenadante foi transferido para um tubo de 15 ml com 300  $\mu\text{L}$  de álcool isopropílico (bem gelado). Em seguida, o tubo foi invertido manualmente e posteriormente centrifugado por 5 minutos a 12000 rpm, para que se obtivesse o DNA precipitado. O sobrenadante foi descartado através da inversão do tubo e 300  $\mu\text{L}$  de Etanol 70% foi adicionado, seguido por posterior centrifugação em 12000 rpm por 5 minutos. Por fim, o sobrenadante foi descartado por inversão e os tubos das amostras ficaram abertos, secando dentro da estufa *overnight*. No dia seguinte 200  $\mu\text{L}$  de Água MiliQ foram adicionados e as amostras foram incubadas a  $56^\circ\text{C}$  em banho maria por 30 minutos. Após esse período, foram armazenadas em geladeira *overnight* para posterior armazenamento a  $-20^\circ\text{C}$ . As amostras de DNA obtidas foram quantificadas quanto a sua pureza em espectrofotômetro Nanovue Plus®

(Eppendorf) e diluídas através de adição de Água MiliQ a fim de se padronizar que todas as amostras possuísem 50ng de DNA por µl.

### 3.4 GENOTIPAGEM

A genotipagem foi realizada através de Reação em Cadeia da Polimerase (PCR) e Polimorfismo de Comprimento de Fragmento de Restrição com enzima de restrição. O protocolo foi adaptado de Mills et al. (2001). O éxon 16 do gene *ACTN3* (rs1815739), onde se encontra o polimorfismo alvo, foi amplificado com a sequência de iniciadores abaixo (Quadro 1), ancorados nas sequências intrônicas adjacentes.

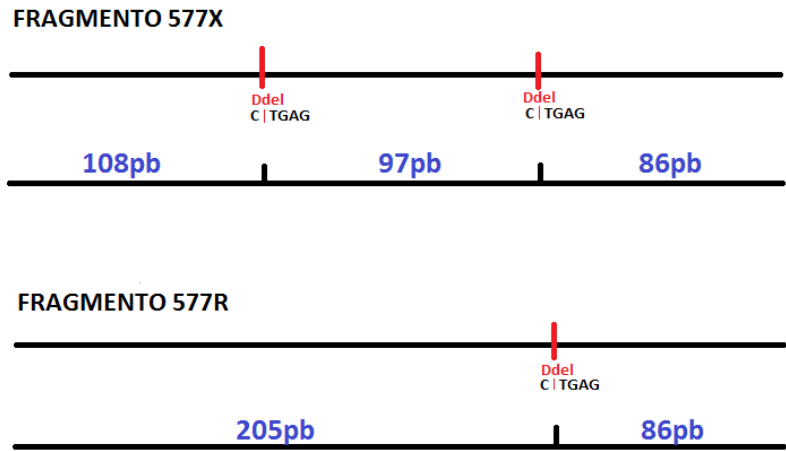
Quadro 1: Sequência de iniciadores utilizados na reação de PCR para o polimorfismo do gene *ACTN3*.

Direto	5' CTGTTGCCTGTGGTAAGTGGG 3'
Reverso	5' TGGTCACAGTATGCAGGAGGG 3'

As reações de PCR tiveram um volume final de 25 µL, com 1x Tampão para Taq, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM de dNTP, 1,0 µM de cada iniciador (Sinapse Biotecnologia, São Paulo, SP, Brasil), 1 unidade de Taq DNA polimerase (Phoneutria Biotecnologia e Serviços, Belo Horizonte, MG, Brasil), usando aproximadamente 250 ng de DNA genômico como molde. A amplificação foi dada pelo seguinte programa: desnaturação inicial a 95°C por 5 minutos, 30 ciclos de 94°C por 30 segundos, 58°C por 30 segundos e 72°C por 30 segundos, com uma extensão final de 72°C por 5 minutos. Após a amplificação, 10µl do produto de PCR foram submetidos a digestão enzimática com 10U de enzima Ddel (New England BioLabs) em uma reação incubada em banho-maria por 4 horas a 37°C. A enzima de restrição Ddel cliva o DNA entre os nucleotídeos C e T. Sendo assim, em sequências R serão gerados dois tipos de fragmentos – em 205 pb e 86 pb. Já em sequências X, têm-se a clivagem em duas regiões, gerando três fragmentos distintos: em 108, 97 e 86 pares de base (Figura 2).

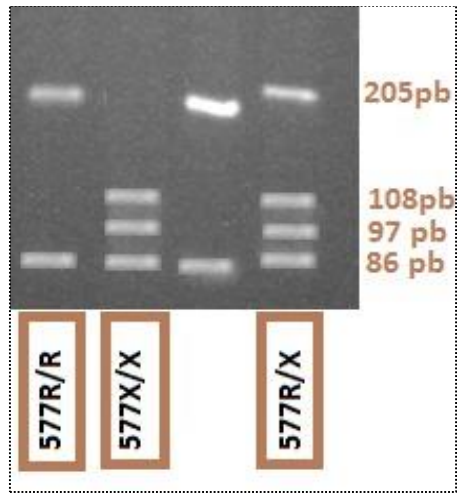
Os fragmentos foram separados por eletroforese em gel de agarose 3% corado com *gel red*, sendo verificados os alelos *ACTN3* 577R (fragmentos de 205 e 86 pares de bases) e *ACTN3* 577X (fragmentos de 108, 97 e 86 pares de bases), como mostram as figuras abaixo.

Figura 2: Esquema da restrição da enzima DdeI.



Fonte: Autora (2018).

Figura 3: Gel de agarose, demonstrando os tipos de bandas possíveis. Indivíduos com genótipo 577R/R apresentam fragmentos na altura de 205 e 86 pb; genótipo 577R/X, 205, 108, 97 e 86 pb; e genótipo 577X/X 108, 97 e 86 pares de bases.



Fonte: Autora (2018)



### 3.5 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Foi utilizado o Equilíbrio de Hardy-Weinberg com as frequências dos grupos para verificar se os grupos estavam em equilíbrio ou se forças evolutivas estavam agindo. Além disso, o teste de qui-quadrado de homogeneidade foi utilizado para verificar se os grupos Jogadores e Controle possuem diferenças substanciais entre si. Para ambos os testes, considerou-se o nível de significância para  $p < 0.05$ .

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 1 apresenta as frequências genótípicas e alélicas dos jogadores de futebol (grupo denominado de “jogadores”) obtidas neste trabalho. Como comparação, foram utilizados resultados obtidos por Coelho (2011) para homens, sedentários, com características de idade semelhantes aos jogadores, considerados “controle”.

Tabela 1: Frequências genótípicas e alélicas em valores absolutos e relativos (%) observadas para o *locus ACTN3* em Jogadores profissionais e indivíduos Controle sedentários do Brasil.

	Genotípica				Alélica	
	RR n (%)	RX n (%)	XX n (%)	P	R n (%)	X n (%)
<b>Jogadores</b>	10 (50)	9 (45)	1 (5)	0.339	29 (72.5)	11 (27.5)
<b>Controle COELHO, 2011</b>	14 (14)	46 (46)	40 (40)	0.013	126 (63)	74 (37)

Ambos os grupos se encontram em Equilíbrio de Hardy-Weinberg, sendo o grupo dos Jogadores com confiabilidade entre 50 e 70% e o grupo Controle com confiabilidade de 90 a 95%.

A fim de entender se essas duas amostragens genótípicas contém as mesmas proporções, um teste de qui-quadrado de homogeneidade foi realizado. O  $\chi^2$  calculado foi igual a 16.77 com grau de liberdade 2, as amostras foram consideradas não homogêneas.

Verifica-se nesses resultados que a distribuição da frequência genotípica do grupo “jogadores” apresentou valores de RR e RX muito

próximos entre si, onde RR apareceu em 50% da amostra e RX em 45%, um grande contraste com a frequência de XX, apresentada em apenas 5% da amostra, que corresponde a apenas um indivíduo.

Ao analisar o grupo controle estudado por Coelho (2011), vemos que as frequências genotípicas diferem muito. Passando para 14% de RR, 46% de RX e 40% de XX.

Com relação à distribuição das frequências alélicas, no grupo de jogadores temos a maior frequência concentrada no alelo R, com 72.5% de ocorrência, em complemento com a frequência de 27.5% de X. Indivíduos controle apresentaram 63% de frequência do alelo R, e 37% de frequência de X.

Os resultados acerca da frequência genotípica de RR para ambos os grupos estão de acordo com a literatura, onde se vê que é maior em jogadores de futebol ou atletas de explosão muscular (em geral) do que em indivíduos não atletas (DRUZHEVSKAYA et al., 2008; EYNON et al., 2012; YANG et al., 2007).

A grande quantidade de RX em detrimento de RR evidencia o caráter heterogêneo do futebol, onde a capacidade de resistência também é importante (COELHO, 2011). Além disso, alguns trabalhos já vêm fazendo a observação de que jogadores muito rápidos acabam sendo perdidos em razão de lesões crônicas antes mesmo de chegarem ao topo (EPSTEIN, 2013), pois por serem capazes de contrair seus músculos mais rapidamente eles acabam tendo um risco muito maior de lesão muscular (ANDERSEN; AAGAARD, 2010). Sendo assim, pode-se inferir que o número elevado de lesões que podem acometer indivíduos RR, mais rápidos, seja um fator que contribua com que os RX sejam favorecidos e, por conta disso, vemos um equilíbrio desses dois genótipos e aumento significativo do alelo X.

O baixo número observado do genótipo XX em jogadores de futebol está de acordo com o já encontrado na literatura (COELHO, 2011; PAPARINI et al., 2007). No entanto, vemos que a frequência genotípica de XX está tão baixa quanto a encontrada para corredores maratonistas africanos (YANG et al., 2007).

O alelo 577X foi identificado em todas as populações mundiais, cobrindo os grupos mais diversos da Ásia, América, Oceania, África e Europa (NORTH, 2008). A frequência do alelo X difere entre as populações humanas, e conforme dados de North (1999), esse alelo está presente em 10% da população Africana e, aproximadamente, em 50% da população da Eurásia. Segundo esta mesma autora, estima-se que 16% da população mundial possui a deficiência de  $\alpha$ -actina-3.

A fim de comparação com resultados obtidos em relação a outros esportistas ao redor dos diferentes continentes e países, dados da literatura foram compilados e apresentados na Tabela 2.

Tabela 2: Dados sobre frequências genotípicas e alélicas (em porcentagem) referentes a atletas de diferentes modalidades e indivíduos controle de distintos países.

População	Sujeitos	XX (%)	RX (%)	RR (%)	R (%)	X (%)	Ref.
<b>Brasil</b>	Atletas	5	45	50	72.5	27.5	-
	Controle	14	46	40	63	37	[3]
<b>Etiópia</b>	Atletas	8	46	46	69	31	[1]
	Controle	12	44	44	66	34	
<b>Quênia</b>	Atletas	1	24	75	91	9	[1]
	Controle	1	15	84	87	13	
<b>Nigéria</b>	Atletas	0	13	87	94	6	[1]
	Controle	0	10	50	92	8	
<b>Austrália (caucasianos)</b>	Atletas	-	-	-	-	-	[1]
	Controle	18	39	52	56	44	
<b>Espanha</b>	Atletas	13	56	31	-	-	[4]
	Controle	18	54	28	55	45	[1]
<b>Itália</b>	Atletas	20	60	21	51	49	[2]
	Controle	24	59	17	47	53	
<b>Japão</b>	Atletas	19	60	21	51	49	[2]
	Controle	22	47	31	55	45	

Os números a seguir se referem às referências: [1] YANG et al. (2007); [2] PAPARINI et al. (2007); [3] COELHO (2011); [4] EYNON et al. (2012) .

Nessa tabela podemos perceber que os grupos de atletas e controle que possuem maior frequência alélica de R são pertencentes aos países da Nigéria, Quênia, Brasil e Etiópia. Enquanto as menores frequências são encontradas no Japão, Itália e Espanha. A frequência do alelo X acompanha a lógica inversa.

O *ACTN3* é altamente conservado durante a evolução, sendo presente em diversos grupos animais, com uma divergência que pode ter acontecido antes de 300 milhões de anos atrás (de acordo com comparações sequenciais com ratos e galinhas) (NORTH, 2008). Dados sugerem que o alelo X é antigo e sua pouca diversidade de sequência e grande desequilíbrio de *linkage* indicam que ocorreu uma seleção positiva nas populações da Europa e Ásia, sugerindo que o alelo promova algum

tipo de vantagem aos humanos modernos para adaptação ao ambiente Eurásico (MACARTHUR; NORTH, 2007; NORTH, 2008).

Através da visualização desse conjunto de dados da literatura, é possível perceber a maior semelhança dos atletas brasileiros deste estudo com atletas africanos de países como Quênia, Nigéria e Etiópia, do que com atletas europeus ou asiáticos, por exemplo.

A fim de tentar entender o que levou às frequências genótípicas encontradas e sabendo que as contratações feitas por times profissionais de futebol não são realizadas por estado de nascença (e sendo assim, um time pode ser muito diverso), fez-se um levantamento da origem geográfica de cada um dos jogadores amostrados. A tabela a seguir (Tabela 3) apresenta os estados de naturalidade do grupo.

Tabela 3: Estados de origem dos jogadores amostrados neste estudo.

<b>Estado</b>	<b>Número de jogadores</b>
Alagoas (AL)	1
Ceará (CE)	2
Espírito Santo (ES)	1
Minas Gerais (MG)	1
Pará (PA)	1
Paraná (PR)	8
Rio Grande do Sul (RS)	2
São Paulo (SP)	3
Santa Catarina (SC)	1

Como podemos observar, os estados nativos dos jogadores que mais possuem expressividade são o Paraná (com 8 jogadores) e São Paulo (com 3 jogadores), seguidos pelo Rio Grande do Sul e Ceará (ambos com 2 jogadores nativos). Os menos expressivos são Alagoas, Espírito Santo, Minas Gerais, Pará e Santa Catarina, todos com 1 jogador representante.

Sabe-se que a colonização brasileira foi composta majoritariamente pela tríade populacional composta por: europeus, um grande contingente de pessoas escravizadas trazidas de algumas regiões da África e povos nativos do continente americano. A miscigenação desses grupos produziu o que hoje é o povo tão diverso do Brasil.

No século 18, tropeiros traçaram uma rota entre o Rio Grande do Sul e São Paulo, assentando seus povoados no caminho, em Santa Catarina e no Paraná (TORRES, 2014). No entanto, é apenas nos anos de 1930-1940 que o estado do Paraná passa a ser mais amplamente ocupado, quando a economia cafeeira finalmente atinge o estado. Os imigrantes

nacionais, principalmente dos estados de Minas Gerais, Espírito Santo e região nordeste como um todo, se sucedem aos imigrantes europeus na ocupação do território (SWAIN, 1988). Não apenas no estado do Paraná, mas como em todo o Sul do Brasil tivemos uma grande entrada de imigrantes europeus, principalmente italianos e alemães.

Dessa forma, é plausível inferir que, sendo a população do sul do Brasil descendente desses imigrantes, as frequências genotípicas de atletas nativos dos estados do Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul se assemelhariam ainda mais às dos atletas europeus. Mas, o que vemos é um afastamento desses dados e uma aproximação de similaridade com africanos.

Uma explicação para essa constatação é a própria história de colonização inicial dos estados natais que mais tiveram expressividade entre os jogadores. A proximidade e colonização simultânea entre boa parte dos estados do Rio Grande do Sul, Paraná, Santa Catarina e São Paulo pode fazer com que as suas populações tenham um certo índice de similaridade genética, mostrando o motivo de jogadores, mesmo de distintos estados, terem bastante similaridade de frequência genotípica.

Além disso, a história de imigração nacional do Paraná (estado com o maior número de jogadores amostrados) mostra estados que já são, conhecidamente, de grande contingente populacional de afrodescendentes, já que a chegada desses povos africanos se deu justamente no nordeste. Nesse sentido, é importante destacar que os atletas de ascendência do oeste da África emergiram como os maiores velocistas do mundo (YANG et al., 2007), enquanto que, segundo o IBGE (2000), apesar de no século XVIII o comércio de pessoas escravizadas em São Paulo, Rio de Janeiro e Recife ser suprido por populações do leste africano, o maior número de africanos escravizados e trazidos ao Brasil vieram de países como Costa do Marfim e Angola, banhados pelo Oceano Atlântico, costa oeste da África.

Por outro lado, esse cenário também pode dar sustento às teorias que indicam que os imigrantes europeus que se assentaram no Sul do Brasil e aqui formaram grande colônias, trouxeram eles mesmos seus índices de miscigenação dadas as movimentações populacionais anteriores com indivíduos oriundos do continente africano e que a aparição dos polimorfismos desse gene precedem a chegada do humano moderno na Europa e na Ásia, cerca de 40.000 a 60.000 anos atrás (FRIEDLANDER et al., 2013).

No que tange à performance esportiva, diversos estudos já vêm relacionando a presença do alelo R com uma maior capacidade de *sprint* e o alelo X com resistência muscular (MACARTHUR; NORTH, 2004,

2007; YANG et al., 2003). Sendo o futebol um esporte que pode ser definido através dos momentos de corrida de alta intensidade (nisto temos o *sprint*), espera-se o número elevado de R, que foi constatado pelos resultados. Ao mesmo tempo em que não ocorre o desaparecimento do alelo X, já que, novamente, pela característica de esporte heterogêneo que necessita de corrida e resistência durante o jogo, os atletas heterozigotos acabam sendo expressivos.

Por outro lado, os genes individuais em geral não têm efeitos tão facilmente mensuráveis. Não pode-se subestimar a complexidade genética e interação de rotas metabólicas e, para tanto, dados de expressão gênica sugerem que há centenas de genes envolvidos na performance esportiva e dentre esses, na resposta à corrida (EPSTEIN, 2013).

Entender cada vez mais esses genes, o polimorfismo *ACTN3 r577x* por exemplo, faz com que seja possível planejar uma treinabilidade adequada a cada tipo de resposta muscular e recuperação de lesões que leve em conta o genótipo e capacidade do indivíduo atleta.

O futebol é um esporte de alto rendimento em que muitas capacidades físicas e aspectos cognitivos diferentes podem afetar e interferir no resultado de um jogo. O conhecimento do perfil genético de atletas pode contribuir na interpretação de diferentes desempenhos em treinos e jogos e, com isso, ajuda na elaboração de um melhor treinamento físico naquelas exigências e capacidades que os atletas não se mostram tão pré-dispostos geneticamente, além do próprio direcionamento de atletas com perfil genético compatível para as diferentes posições táticas do futebol.

Mesmo com todo o dinheiro que circula e a glória que recebe o futebol em torno de todo o mundo, as comissões técnicas podem estar perdendo jogadores mais ágeis, por exemplo, antes que eles cheguem ao nível profissional, já que, para alguns, menos treinamento é a prescrição certa. Se diferenças inatas de tipo corporal não começarem a ser levadas em conta, alguns atletas serão sacrificados em razão da ideia de que o mesmo treinamento se aplica a todos os casos (EPSTEIN, 2013).

Deve-se começar a pensar em incluir em sua seleção de atletas um teste feito com base em uma genotipagem simples, que, por sua vez, mostrará as capacidades que o atleta pode se destacar, ainda que não se deva utilizar esses parâmetros para decisões acerca de contratações.

Além disso, a identificação do perfil genético de atletas já atuantes é importante pois através dela o planejamento de recuperação e de cargas de treinamento poderá ser feito individualizado, já que alguns atletas não pré-dispostos geneticamente podem ser super-exigidos nos treinamentos ou se recuperam pouco em comparação a outros colegas.







## 5 CONCLUSÃO

Com o presente trabalho foi possível identificar a diferença expressiva que existe nas frequências alélicas e genotípicas do polimorfismo *ACTN3* *r577x* entre jogadores de futebol profissionais e indivíduos não atletas, indicando que o polimorfismo é, de fato, muito ligado à performance esportiva.

Analisando jogadores de clubes de futebol do estado do Paraná, pode-se perceber que, além de suas frequências genotípicas e alélicas diferirem de indivíduos não atletas (onde jogadores possuem maior frequência do alelo R, e muito expressivamente dos genótipos RR e RX), existem diferenças entre esses jogadores se comparados com resultados obtidos com atletas de outros países.

Foi possível observar que as frequências apresentadas por atletas do Paraná se assemelhavam muito às frequências obtidas em estudos feitos com atletas africanos, e se afastavam consideravelmente dos resultados em atletas europeus ou asiáticos.

A história de colonização do Brasil e migração do estado do Paraná foi um dos fatores que permitiu entender esses resultados. Sendo tanto o país como o estado do Paraná sujeitos de imigração de populações africanas, mesmo que em momentos e situações diferentes, permitiu-se que a população paranaense tivesse essa similaridade e aproximação genética que vimos nos resultados, apesar da colonização expressiva que o estado e todo o Sul do país tiveram de imigrantes europeus.

No entanto, esse último ponto também pode ser mais um escopo para teorias que afirmam que as populações imigrantes que vieram da Europa para o sul do Brasil, já trouxeram consigo seus índices de miscigenação com o Continente Africano.

Entender esses aspectos e particularidades genéticas dentro de um time de futebol auxilia muito no âmbito de traçar uma tática esportiva. Índices de lesões, de recuperação, velocidade e o próprio desempenho em campo podem ser explicados por meio de influências inatas do corpo, como características musculares advindas, também, de aptidões genéticas. Como é o caso do *ACTN3*, por exemplo.

Conhecer o perfil genético dos jogadores em campo fará com que as Comissões Técnicas planejem um treinamento, recuperação de lesão e até adequem da melhor forma as posições táticas dos jogadores, onde cada um terá suas características individualizadas e levadas em consideração.

O estudo teve limitações no âmbito de não haver coleta própria dos indivíduos não jogadores e desconhecimento das regiões geográficas do

grupo amostrado por Coelho (2011). Um estudo que controle melhor essa variável pode trazer resultados ainda mais concretos.

Além disso, o número amostrado de jogadores não foi muito alto, ainda que equivalente a muitos outros trabalhos realizados na área. Um n-amostal maior de atletas pode trazer inferências e divergências de frequência interessantes, e por isso é recomendável que futuros estudos aumentem suas amostragens.

Por fim, a relação desses resultados e outras características que podem ser estudadas é muito grande. Nesse sentido, destaca-se a velocidade que cada jogador alcança, distâncias percorridas, tipos de fibras musculares, consumo de oxigênio durante o jogo, genotipagem para outros polimorfismos envolvidos com a performance esportiva, entre outros parâmetros, que podem ser estimados e correlacionados com os resultados de genotipagem para *ACTN3*. Recomenda-se para futuras pesquisas que ocorra uma amostragem e compilação desses dados juntamente com a própria análise do polimorfismo.

## 6 REFERÊNCIAS

AHMETOV, I. I. et al. The use of molecular genetic methods for prognosis of aerobic and anaerobic performance in athletes. **Human Physiology**, v. 34, n. 3, p. 338–342, 2008.

ANDERSEN, J. L.; AAGAARD, P. Effects of strength training on muscle fiber types and size; consequences for athletes training for high-intensity sport. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 20, n. SUPPL. 2, p. 32–38, 2010.

BEGGS, A. H. Cloning and characterization of two human skeletal muscle [alpha]-actinin genes located on chromosomes 1 and 11. **Journal Biological Chemistry**, v. 267, n. 13, p. 9281–9288, 1992.

BERMAN, Y.; NORTH, K. N. A Gene for Speed: The Emerging Role of  $\alpha$ -Actinin-3 in Muscle Metabolism. **Physiology**, v. 25, n. 4, p. 250–259, 2010.

BURRIDGE, K.; FERAMICO, J. R. Non-muscle  $\alpha$ -actinins are calcium-sensitive actin binding proteins. **Nature**, v. 294, n. 5841, p. 565–567, 1981.

COELHO, Daniel Barbosa. **Determinação da frequência genotípica do ACTN3 e da sua relação com o desempenho físico, respostas hormonais e indicadores do dano muscular em jogadores de futebol**. 2011. 111 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências do Esporte, Escola de Educação Física, Fisioterapia e Terapia Ocupacional, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2011. Disponível em: <[http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/KMC\\_G8LVN8P/tese\\_doutorado\\_daniel\\_coelho\\_final\\_set\\_2011.pdf?sequence=1](http://www.bibliotecadigital.ufmg.br/dspace/bitstream/handle/1843/KMC_G8LVN8P/tese_doutorado_daniel_coelho_final_set_2011.pdf?sequence=1)>. Acesso em: 10 jun. 2018.

CONFEDERAÇÃO BRASILEIRA DE FUTEBOL (Brasil). Raio-X do Futebol. 2016. Disponível em: <<https://www.cbf.com.br/a-cbf/informes/index/raio-x-do-futebol-numero-de-clubes-e-jogadores>>. Acesso em: 1 out. 2018.

DELLAL, A. et al. Comparison of physical and technical performance in European soccer match-play: Fa Premier League and La Liga. **European Journal of Sport Science**, v. 11, n. 1, p. 51–59, 2011.

DRUZHEVSKAYA, A. M. et al. Association of the ACTN3 R577X polymorphism with power athlete status in Russians. **European Journal of Applied Physiology**, v. 103, n. 6, p. 631–634, 2008.

EPSTEIN, David. *A Genética do Esporte: Como a Biologia Determina a Alta Performance Esportiva*. Rio de Janeiro: Elsevier, 2013. 320 p.

EYNON, N. et al. The ACTN3 R577X polymorphism across three groups of elite male European athletes. **PLoS ONE**, v. 7, n. 8, p. 1–7, 2012.

FRIEDLANDER, S. M. et al. ACTN3 Allele Frequency in Humans Covaries with Global Latitudinal Gradient. **PLoS ONE**, v. 8, n. 1, p. 6–9, 2013.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA (Brasil). *Brasil 500 anos: Território Brasileiro e Povoamento*. 2000. Disponível em: <<https://brasil500anos.ibge.gov.br/territorio-brasileiro-e-povoamento/negros/regioes-de-origem-dos-escravos-negros.html>>. Acesso em: 10 out. 2018.

LOVISOLO, Hugo. Introdução. In: HELAL, Ronaldo; SOARES, Jorge; LOVISOLO, Hugo. *A Invenção do País do Futebol: Mídia, raça e idolatria*. 2. ed. Rio de Janeiro: Mauad, 2001. 160 pgs.

MACARTHUR, D. G. et al. An Actn3 knockout mouse provides mechanistic insights into the association between  $\alpha$ -actinin-3 deficiency and human athletic performance. **Human Molecular Genetics**, v. 17, n. 8, p. 1076–1086, 2008.

MACARTHUR, D. G.; NORTH, K. N. A gene for speed? The evolution and function of  $\alpha$ -actinin-3. **BioEssays**, v. 26, n. 7, p. 786–795, 2004.

MACARTHUR, D. G.; NORTH, K. N. ACTN3: A genetic influence on muscle function and athletic performance. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, v. 35, n. 1, p. 30–34, 2007.

MICHAEL, D. et al. The structure and function of. **Biochemical society transactions**, v. 84, n. April, p. 467–480, 1987.

MILLS, M.; YANG, N.; WEINBERGER, R.; VANDER WOUDE, D. L.; BEGGS, A. H.; EASTEAL, S.; NORTH, K. “Differential expression of the actin-binding proteins,  $\alpha$ -actinin-2 and -3, in different species:

implications for the evolution of functional redundancy”. **Human Molecular Genetics**, v. 10, p. 1335-46, 2001.

NORTH, K. Why is  $\alpha$ -actinin-3 deficiency so common in the general population? The evolution of athletic performance. **Twin Research and Human Genetics**, v. 11, n. 4, p. 384–394, 2008.

NORTH, K. N. et al. A common nonsense mutation results in  $\alpha$ -actinin-3 deficiency in the general population [1]. **Nature Genetics**, v. 21, n. 4, p. 353–354, 1999.

PAPARINI, A. et al. ACTN3 genotyping by real-time PCR in the Italian population and athletes. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 5, p. 810–815, 2007.

PASQUA, L. A. et al. ACTN 3 e desempenho esportivo: Um gene candidato ao sucesso em provas de curta e longa duração. **Revista Brasileira de Cineantropometria e Desempenho Humano**, v. 13, n. 6, p. 477–483, 2011.

REILLY, T.; BANGSBO, J.; FRANKS, A. Anthropometric and physiological predispositions for elite soccer. **Journal of Sports Sciences**, v. 18, n. 9, p. 669–683, 2000.

SANTIAGO, C. et al. ACTN3 genotype in professional soccer players. **British Journal of Sports Medicine**, v. 42, n. 1, p. 71–73, 2008.

SANTOS, D. DOS; COLEDAM, D. H. C.; DOS-SANTOS, J. W. Alterações na potência anaeróbia após a pré-temporada em atletas profissionais de futebol Douglas dos Santos Diogo Henrique Constantino Coledam Introdução O futebol é caracterizado como um esporte que demanda esforço intermitente , com ações de alta inten. **Movimento & Percepção**, v. 10, n. jul/dez, p. 254–263, 2009.

SCOTT, R. A. et al. ACTN3 and ACE genotypes in elite Jamaican and US sprinters. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 42, n. 1, p. 107–112, 2010.

STØLEN, T. et al. Physiology of soccer: An update. **Sports Medicine**, v. 35, n. 6, p. 501–536, 2005.

SWAIN, T. N. Fronteiras do Paraná: da colonização à migração. **Universidade de Brasília**, p. 19–37, 1988.

TORRES, Sandra Regina Rachadel. **Avaliação da estrutura genética da população atual de Santa Catarina com diferentes marcadores moleculares para aplicação na genética forense**. 2014. 221 f. Tese (Doutorado) - Curso de Biologia Celular e do Desenvolvimento, Biologia Celular, Embriologia e Genética, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014. Disponível em: <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/129210/329287.pdf?sequence=1&isAllowed=y>>. Acesso em: 10 out. 2018.

TUMILTY, D. Physiological Characteristics of Elite Soccer Players. **Sports Medicine: Evaluations of Research in Exercise Science and Sports Medicine**, v. 16, n. 2, p. 80–96, 1993.

YANG, N. et al. ACTN3 Genotype Is Associated with Human Elite Athletic Performance. **The American Journal of Human Genetics**, v. 73, n. 3, p. 627–631, 2003.

YANG, N. et al. The ACTN3 R577X polymorphism in east and west African athletes. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 39, n. 11, p. 1985–1988, 2007.

